

学校编码: 10384

分类号____密级____

学 号: 32320131153378

UDC____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

分泌蛋白在乳腺癌诊断中的意义及机制研究

Mechanistically Investigation for The Significance of

Secreted Proteins in Diagnosis of Breast Cancer

胡修永

指导教师姓名: 王 团 老 教 授

专 业 名 称: 化 学 生 物 学

论文提交日期: 2016 年 4 月

论文答辩时间: 2016 年 5 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月

目录	
摘要	1
Abstract	2
第一章 前言	3
1.1 分泌蛋白与乳腺癌检测	3
1.2 细胞因子与乳腺癌检测	3
1.3 课题背景	4
1.4 IL6 简介	5
1.4.1 IL6 的结构与功能	5
1.4.2 IL6 参与的信号通路	7
1.5 IL9 简介	8
1.5.1 IL9 的结构与功能	8
1.5.2 IL9 参与的信号通路	10
1.6 IL21 简介	10
1.6.1 IL21 的结构与功能	10
1.6.2 IL21 参与的信号通路	13
1.7 FGF1 简介	13
1.7.1 FGF1 的结构与功能	13
1.7.2 FGF1 参与的信号通路	15
1.8 FGF10 简介	16
1.8.1 FGF10 的结构与功能	16
1.8.2 FGF10 参与的信号通路	18
1.9 FGF14 简介	19
1.9.1 FGF14 的结构与功能	19
1.10 本论文的研究目的和意义	20
第二章 材料与方法	21
2.1 材料	21
2.1.1 实验菌株、细胞和质粒	21
2.1.2 引物	21
2.1.3 抗体	22
2.1.4 主要试剂	22
2.1.5 常用溶液组份	25
2.1.6 主要设备	26
2.2 实验方法	27
2.2.1 质粒构建	27
2.2.2 原核表达重组蛋白提取与纯化	31
2.2.3 蛋白浓度测定	32
2.2.4 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	32
2.2.5 免疫印迹	33

2.2.6 细胞培养.....	33
2.2.8 划痕实验.....	35
2.2.9 transwell 实验.....	35
2.2.10 细胞免疫荧光.....	35
第三章 实验结果.....	37
3.1 乳腺癌临床血清样本中几种分泌蛋白的检测.....	37
3.1.1 血清样本中分泌蛋白 IL6 的检测.....	38
3.1.2 血清样本中分泌蛋白 IL9 的检测.....	39
3.1.3 血清样本中分泌蛋白 IL21 的检测.....	39
3.1.4 血清样本中分泌蛋白 FGF1 的检测.....	40
3.1.5 血清样本中分泌蛋白 FGF10 的检测.....	41
3.1.6 血清样本中分泌蛋白 FGF14 的检测.....	41
3.1.7 血清样本中分泌蛋白 CEA 的检测.....	42
3.1.8 血清样本检测结果总结.....	43
3.2 分泌蛋白对促进乳腺癌迁移、侵袭的作用.....	44
3.2.1 IL6、FGF1 的制备.....	44
3.2.2 分泌蛋白间组合对 MCF7 细胞迁移的影响.....	45
3.2.3 分泌蛋白间组合对 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的影响.....	48
3.2.4 分泌蛋白间组合对乳腺癌细胞增殖能力的影响.....	49
3.2.5 分泌蛋白间的组合对 EMT 的影响.....	51
3.3 信号通路检测结果.....	53
第四章 讨论.....	56
参考文献.....	59

Contents

Abstract in Chinese	1
Abstract in English	2
Chapter 1 Introduction	3
1.1 Secreted proteins abd breast cancer detection	3
1.2 Cytokines and breast cancer detection	3
1.3 Background	4
1.4 Introduction of IL6	5
1.4.1 IL6 Structure and Function	5
1.4.2 IL6 participate signal path	7
1.5 Introduction of IL9	8
1.5.1 IL9 Structure and Function	8
1.5.2 IL9 participate signal path	10
1.6 Introduction of IL21	10
1.6.1 IL21 Structure and Function	10
1.6.2 IL21 participate signal path	13
1.7 Introduction of FGF1	13
1.7.1 FGF1 Structure and Function	13
1.7.2 FGF1 participate signal path	15
1.8 Introduction of FGF10	16
1.8.1 FGF10 Structure and Function	16
1.8.2 FGF10 participate signal path	18
1.9 Introduction of FGF14	19
1.9.1 FGF14 Structure and Function	19
1.10 The purpose and significance of the study	20
Chapter 2 Meterials and methods	21
2.1 Meterials	21
2.1.1 Bacterial strain,cells and plasmids	21
2.1.2 Primer	21
2.1.3 Antibody	22
2.1.4 Reagents	22
2.1.5 Buffer	25
2.1.6 Instruments and equipments	26
2.2 Methods	27
2.2.1 Construction of Plasmid	27
2.2.2 Prokaryotic expression and purification of recombinant protein	31
2.2.3 Protein Assay	32
2.2.4 SDS- polyacrylamide gel electrophoresis	32
2.2.5 Western blot	33

2.2.6 Cell Culture	33
2.2.8 Scratch test	35
2.2.9 Transwell experiment	35
2.2.10 Immunofluorescence	35
Chapter 3 Results	37
3.1 Detection of several secreted proteins in breast cancer serum samples	37
3.1.1 Detection of IL6 in serum samples	38
3.1.2 Detection of IL9 in serum samples	39
3.1.3 Detection of IL21 in serum samples	39
3.1.4 Detection of FGF1 in serum samples	40
3.1.5 Detection of FGF10 in serum samples	41
3.1.6 Detection of FGF14 in serum samples	41
3.1.7 Detection of CEA in serum samples	42
3.1.8 Summary of results of serum samples tested	43
3.2 The role of secreted protein in promoting breast cancer migration and invasion	43
3.2.1 IL6, FGF1 preparation	44
3.2.2 The combination of secreted protein promote MCF7 cell migration	45
3.2.3 The combination of secreted protein promote MDA-MB-231 invasion	48
3.2.4 Combination between secretory protein effect on breast cancer cell proliferation	49
3.2.5 Effect of combination between secreted proteins for EMT	51
3.3 Signal path detection result	53
Chapter 4 Discussion	56
Reference	59

摘要

分泌蛋白对于乳腺癌的发生、发展起着至关重要的作用。有研究表明,分泌蛋白协同作用可促进正常乳腺细胞在软琼脂上的生长,结果提示多个分泌蛋白水平的变化可能是乳腺癌发生、恶化的标志。本研究拟利用乳腺癌临床血液样本,分析血清中几种分泌蛋白的含量,探讨几种分泌蛋白联用在乳腺癌诊断中的意义,并进一步研究这些分泌蛋白在促进乳腺癌细胞迁移、侵袭过程中的作用。

本文首先用 ELISA 双抗体夹心方法检测临床血清样本中 IL6、IL9、IL21、FGF1、FGF10、FGF14 的含量,结果表明 IL6, FGF1, FGF10 三种蛋白在恶性的乳腺癌病人血清中的含量高于对照组的:其中 IL6 在大多数恶性病人血清中的含量更是超过了正常人的两个数量级; FGF1 在正常人的血清中的浓度大概在 20-30pg/ml,而在多数恶性肿瘤病人血清中达到 80-180pg/ml; FGF10 在恶性肿瘤和健康对照组之间也是有显著性差异。

针对 IL6, FGF1, FGF10 三种分泌蛋白,我们分别采用了划痕实验和 transwell 实验研究了他们对乳腺癌细胞的迁移、侵袭是否存在协同效应。结果显示:在对乳腺癌细胞 MCF7 的迁移上,三种蛋白都有促进的作用并且在组合后促迁移更明显,其中 IL6 在与 FGF1 联合使用后增加的幅度最大,三种蛋白一起作用更是达到了促进迁移的最大值;在研究对细胞侵袭的实验中我们也得出了相似的结果。研究结果表明三种分泌蛋白可协同促进 ERK 通路和 AKT 通路。

我们的研究结果表明, IL6, FGF1, FGF10 三种分泌蛋白可以协同促进乳腺癌细胞的迁移、侵袭;三种分泌蛋白联用在乳腺癌诊断中可能具有重要意义。

关键词: 分泌蛋白; 乳腺癌; 协同作用

Abstract

Secreted proteins plays a vital role in breast cancer occurrence and development . The previous investigation demonstrated that Secreted proteins synergistically promote the growth of normal breast cells in soft agar, suggesting that the marked change in multiple secreted proteins may be related to breast cancer. In this study ,we analyzed the content of several secreted proteins in the clinical serum from the patients with breast cancer and investigated the roles of several secreted proteins in promoting cell migration and invasion of breast cancer cells.

Firstly, detected the content of IL6, IL9, IL21, FGF1, FGF10, FGF14 in clinical serum samples with double-antibody sandwich ELISA method. The results showed that the concentration of IL6, FGF1 and FGF10 in most of the serum samples of malignant breast cancer patients are higher compared with that in control samples. The average concentration of IL6 in malignant patients sera is more than normal samples two orders of magnitude. The concentration of FGF1 in normal serum is about 20-30 pg/ml, and in the malignant tumor patient's serum is up to 80-180 pg/ml. There is also a significant difference in FGF10 between the cancer and the healthy control group.

Next ,we investigated the synergistic effect of IL6,FGF1 and FGF10 on migration, invasion of breast cancer cells using wound healing and transwell matri-gel assays. The results showed that IL6,FGF1 or FGF10 can promote migration of MCF7 cells individually, however the enhancement of migration is more significant by the combination use of IL6,FGF1 or FGF10. IL6 is optionally works with FGF1 in promoting cell migration, and the combination use of three proteins achieves the maximum promotion of migration. In the cell invasion experiments we obtained similar results that combination use of IL6,FGF1 or FGF10 enhances invasion of breast cancer cells.

Finally, our results suggested that IL6,FGF1 and FGF10 can synergistically promote ERK and AKT signaling pathway.

Our results show that, secreted proteins IL6, FGF1,and FGF10 can work together to promote breast cancer cell migration, invasion. The combination use of IL6,FGF1 and FGF10 may have potential diagnostic significance in breast cancer.

Key words: secreted proteins; breast cancer; synergy

第一章 前言

1.1 分泌蛋白与乳腺癌检测

目前，乳腺癌是威胁女性健康的主要疾病之一。近年来，全球的乳腺癌发病率一直呈上升趋势，我国虽然不是高发国家，但是近年来的情况也不容乐观。乳腺的病变并不会危及到人的生命安全，所以原位的乳腺癌并不致命，正是由于癌变的细胞失去了正常细胞的特性，它可以分泌出一些分泌蛋白到周围的微环境里，这些分泌蛋白可以通过自分泌或者旁分泌的形式作用于细胞本身或者周围的细胞，使癌变的细胞从原本的位置上脱离下来。同样也是由于分泌蛋白的作用，癌变的细胞可以侵入到血管，并随着血液在身体的其他部位着陆，进而引起相应部位的病变，例如骨转移，肺转移，淋巴结转移。所以在这一过程中，分泌蛋白起到了关键性的作用。也正是因为如此，检测体液中某些分泌蛋白的含量成为目前检测乳腺癌的热点。但是目前仅仅是通过对一种分泌蛋白的检测，还不能够满足对检测准确度的要求，能够把几种分泌蛋白联合起来作为检测标准，能够大大的提高准确度。

1.2 细胞因子与乳腺癌检测

细胞因子是分泌蛋白的一种，为大家所知，在乳腺癌中既有促进肿瘤的作用也有抑制肿瘤的作用，最终起到什么样作用主要取决于它们的相对浓度和是否有其他调节因子的存在。不同的细胞因子在调控免疫系统上都会起到非常重要的作用。^[1]

简而言之，细胞因子主要是通过淋巴细胞和巨噬细胞分泌，以自分泌或者旁分泌的形式改变着目标细胞的功能。细胞因子有着几个结构和功能上的共同特征：(a) 它们通常是被糖基化的多肽 (b) 它们在非常低的浓度下 (pg/ml-ng/ml) 发挥生物学活性 (c) 通过结合到目标细胞表面的受体上发挥效应 (d) 是多效型的 (e) 他们的影响是附加的、协同的或拮抗的。因此，它是这些影响综合在一起决定了最终的结果。^[2]

某些细胞因子已经被表明能够促进抗肿瘤效应物的产生和疗效，包括树突细胞和淋巴因子激活的杀伤细胞，进而引起肿瘤生长的抑制，或者一定程度上的消退。这里的大多数研究是在体外进行的。除了它们对免疫系统的影响外，还有报

道称细胞因子还可以影响肿瘤附近的芳香酶的活性和雌激素的合成,进而促进肿瘤的生长和侵袭。^[3]

最近几年对于把细胞因子作为预后因子的关注度越来越高。不论是先天性的还是后天形成的免疫系统都被认为在抗肿瘤反应上发挥着重要作用。在过去的几年里,宿主免疫系统和肿瘤细胞之间的反应已经成为热门研究的主题。^[4]

1.3 课题背景

研究分泌蛋白在转变乳腺上皮细胞上表现出的协同作用。我们已经在逆转录病毒载体中建立了一个有 470 种分泌蛋白的表达库,并以高的感染复数去感染人的乳腺上皮细胞,已达到能够获得多样的转染细胞,表达不同分泌因子的组合的目的。这些细胞是通过在软琼脂上的生长来筛选的,然后这个转进去的 cDNA 被回收。(具体过程如图 1-1) 分析了大约 300 个克隆表明确实有可能通过逆转录病毒转染的方法获得多样性共转的 MCF10A 细胞。从被筛选出来的细胞中回收的 cDNA 也发现了那些报道过的在乳腺癌的发展中起重要作用的蛋白有很高的回收率,比如 Wnt 和 FGF,同时也发现了一些以前没有报道过的与乳腺癌发展相关的蛋白有高的回收率,比如 FGF 结合蛋白、对氧磷酶。此外这种在筛选出来的细胞中的多样共转的高发生率表明多个分泌蛋白对于 MCF10A 成功的非依赖锚定生长是必需的。我们注意到尤其是 IL6 跟其他分泌蛋白组合到一起的时候能够更有效的促进 MCF10A 细胞的非依赖锚定生长,然而 IL6 单独作用不会起到这样的效果。通过这种方法,我们最后得出结论最能促进生长的组合是白介素间的组合,如 IL6-IL21, IL6-IL9。同时在 IL6 和 FGF1, FGF10 或者 FGF14 之间的组合也会很大的促进 MCF10A 细胞在软琼脂上的生长^[5]。

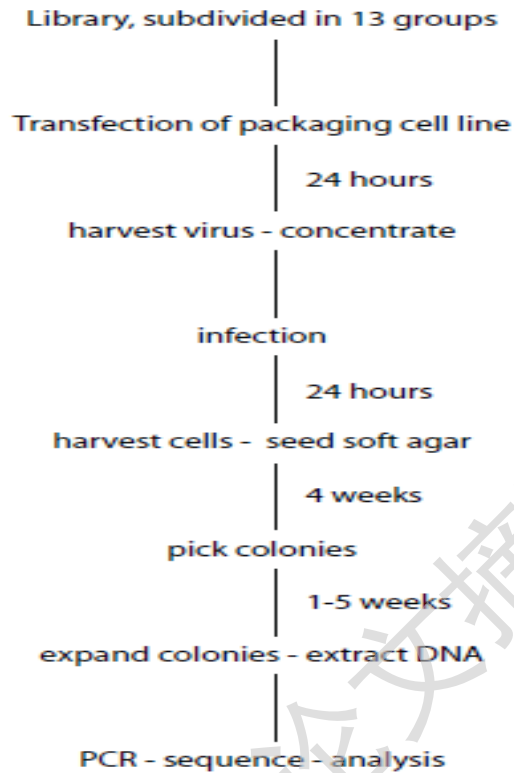


图 1-1 分泌蛋白筛选的流程图

Figure1-1 Flowchart of Screening secreted proteins

(图片来源: Van Huffel SC,et al.2011^[5])

1.4 IL6 简介

1.4.1 IL6 的结构与功能

白介素 6 是一个 30KD 的多功能性的糖蛋白。由于 IL6 涉及各种生理学和病理学过程, 它还被命名为 B 细胞刺激因子 (BSF-2), β 2-干扰素 (IFN- β 2), 杂交瘤/浆细胞瘤生长因子 (HPGF) 和细胞毒性 T 细胞分化生长因子。主要是由 T 细胞, B 细胞, 内皮细胞, 成纤维细胞, 巨噬细胞和上皮细胞分泌产生。它参与到与受伤和炎症相关的急性反应蛋白的上调, 还涉及造血干细胞的分化和各种细胞 (如神经细胞和骨髓细胞) 的增殖和分化。影响 IL6 基因的表达的因素有很多: 炎症因子调控 (如脂多糖); 各种病毒 (如 HIV 和疱疹病毒); 各种与愈合和肿瘤生长的基质重建过程相关的细胞因子 (如 IL1, PDGF, VEGF)。^[6]白介素 6 (IL6) 是白介素 6 类型细胞因子家族中的一员, 这个家族还包括 OSM, LIF, IL-11, ciliary neurotrophic factor and cardiotro-phin-1。因为他们在分子

水平上共享一样的信号分子,所以这些肽段在多种组织和细胞中促使相似的生物反应。IL6 类型细胞因子家族的受体包括两个亚基,一个是 α 亚基,它承担的职能是配体特异性,另外一个 β 亚基 (gp130),它起到信号转导的作用,这些对所有的 IL6 类型细胞因子都适用。^[7]

白介素 6 是免疫反应,造血系统,和急性反应的一个多功能调节因子,已经有报道其能够调节细胞增殖。IL6 促进造血细胞,角质细胞,骨髓瘤/浆细胞瘤,和卡波西肉瘤细胞的增殖,然而它却抑制 M1 骨髓白血病细胞,早期的黑素瘤细胞和肺癌细胞的增殖。

有愈合实验证明白介素 6 能够刺激 cholangiocarcinoma (CCA) 细胞迁移。^[8]臧春宝等证实 IL-6 在体外可促进 Eca-109 增殖、侵袭、迁移,诱导食管癌 Eca-109 细胞发生 EMT 改变。^[9]还有研究发现在体外条件下 IL6 能够减少三种细胞系的黏附作用,这可能跟 E-Cadherin 表达量的减少有关,从而增加细胞运动的能力,这也意味着促进肿瘤转移的能力。^[10]存在于骨髓内的间充质干细胞会持续分泌出 IL6 到微环境中,当 ER α 阳性的乳腺癌细胞(MCF-7, T47D, BT474, ZR-75-1)与骨髓间充质干细胞共培养时,乳腺癌细胞的生长速率会加快。这样在体内就是骨髓干细胞通过旁分泌或者直接作用的方式作用于迁移到骨髓的 ER α 阳性乳腺癌细胞,加快了乳腺癌骨转移的进程。^[11]脂肪干细胞分泌的 IL6 也能够促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭。^[12]有报道发现 ras 能够在不同的细胞中诱导出 IL6 的表达,而且敲除或者敲低 IL6 的基因或者用抗体去中和掉 IL6,那么 ras 引发的肿瘤形成就会被阻碍。IL6 还能够以旁分泌的形式起到促进血管生成和肿瘤生长的作用。因此抑制 IL6 可能对于原癌基因 ras 突变导致的癌症有一定的治疗作用。^[13]

还有实验证明 IL6 与抗药性有关:如外源 IL6 的存在增加了乳腺癌细胞对于阿霉素治疗的抗性;^[14]GP96 是一种与肿瘤细胞抗药性相关应急蛋白有关的葡糖,外源的 IL6 能够在转移性乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 中诱导它,而在原始细胞 BT474 中对它没有影响。^[15]

另外,病毒 IL6 是人源 IL6 的一个同系物,其能够抑制凋亡,促进炎症信号,血管生成和细胞增殖。尽管它也是被分泌,但它主要是一个细胞内蛋白,被阻挡在内质网里。这种病毒 IL6 可以帮助 KSHV (卡波西肉瘤相关的疱疹病毒) 调控

宿主细胞信号通路。^[16]

除此之外,也有文章对临床样本做过研究。乳腺癌病人血清中的 IL6 浓度比健康对照者血清中的浓度有明显的增高 ($p<0.001$)。而且迁移性乳腺癌病人血清中的平均 IL6 浓度比未转移的病人高出近 10 倍。IL6 在多种细胞中可以由于低氧而产生,进而导致 VEGF mRNA 的增多。血清白介素 6 是区别健康对照组和乳腺癌病人最明显的因子。相关研究表明白介素 6 在促进疾病进展上有很大作用,尤其是在晚期的乳腺癌病人。白介素 6 不仅能够上调 VEGF 的表达,在基质细胞和肿瘤细胞中还增加了芳香酶的活性,促进了细胞的迁移,抑制了凋亡。^[17]

然而,也有相反的报道。在人的 ER (+) 乳腺癌细胞系中发现 IL6 通过诱导凋亡抑制增殖。在 MCF-7 和 ZR-75-1 细胞中,5ng/ml 的 IL6 能够诱导 DNA 片段化,这是凋亡的特征之一。^[18]

1.4.2 IL6 参与的信号通路

当 IL6 与 IL6 受体结合以后,与 gp130 相连的细胞内酪氨酸激酶 Jak1, Jak2 和 Tyk2 被激活,然后磷酸化 gp130 的胞内段的特异酪氨酸残基。这些磷酸化的酪氨酸被当作信号分子(STATs 和介导 Ras/MAPK 信号通路活性的分子,如 SHP-2 和 Shc 衔接分子)停泊的位点。进而,STAT 的酪氨酸残基又被磷酸化,然后使他它形成二聚体转到细胞核内,并起到转录调控的作用。Shc 和 SHP-2 的酪氨酸残基也是被 Jak 磷酸化,就导致了诸如 Grb2 衔接分子被招募,最终导致了 MAPK 被激活。最近发现多底物锚定分子 Gab1 也作为连接 gp130 与 MAPK 和 PI3K 信号通路之间的衔接分子,如图 1-2。

在食管癌和骨髓肿瘤细胞中,IL6 都表现出很强的促生长存活作用,这种作用是通过诱导一种或几种抑制凋亡的蛋白(BCL-2, BCL-X1, MCL-1)发生的。^[19, 20] 其对食管癌 Eca-109 细胞 EMT 作用,机制可能是通过激活 Jak2 /Stat3 信号通路诱导食管癌 Eca-109 细胞 EMT 过程,进一步促进肿瘤侵袭和迁移。^[8]

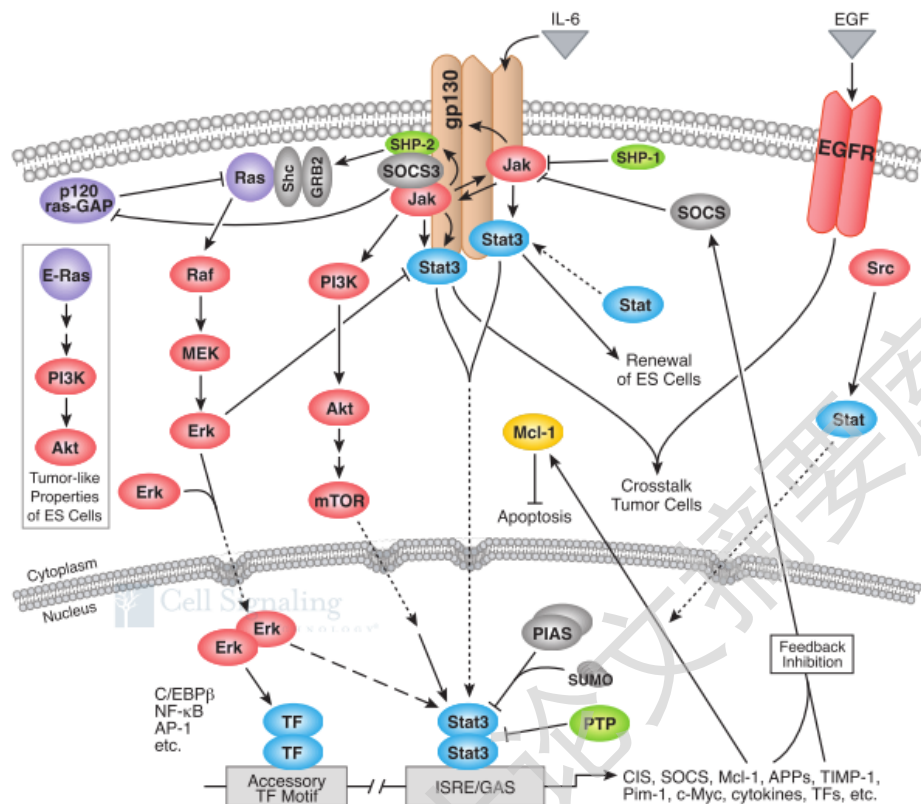


图 1-2 IL6 信号通路图

Figure1-2 Signaling pathway of IL6

(图片来源: cell signaling technology)

1.5 IL9 简介

1.5.1 IL9 的结构与功能

白介素 9 第一次被提出来是在 19 世纪 80 年代^[21], 刚开始被当作 T 细胞和肥大细胞的生长因子, 根据分子量和能够促进肥大细胞生长的活性被命名 P40^[22]。P40 的克隆和完整的氨基酸序列揭示了它在结构上区别于其他的 T 细胞生长因子, 然后又根据它在骨髓细胞和淋巴细胞上的生物学功能重新命名为 IL9^[23]。它是在免疫系统有着多样性功能的细胞因子的一员。近期关于 IL9 的研究主要是集中在其在炎症免疫反应中的作用和在细胞中能够激活 IL9 基因的转录调控因子的发现^[20]。

IL9 主要是由 T 淋巴细胞分泌, 其中包括长期 T 细胞、抗原特异性 T 细胞、幼鼠 T 细胞^[20]。人的 IL9 全长 mRNA591bp, 通过序列编码 144 个氨基酸, 大概

可以推测出是一个 14KD 的蛋白。小鼠和人的 IL9 基因结构类似，都是有 5 个外显子，在蛋白质水平上其氨基酸同源性高达 55%^[24]。鼠的 IL9 存在于 13 号染色体上，人的 IL9 存在于 5 号染色体^[20]。IL-9 受体(IL-9R)属共 γ 链的细胞因子受体家族，由一条特异性的 α 链(IL-9R α)和一条 γ 链组成。^[23]

2008 年，一群新的效应 T 细胞亚群 Th9 被发现，这类细胞以分泌 IL9 和 IL10 著称^[25, 26]。但是 Th9 细胞分泌 IL9 受到很多因素的影响，如 IL25 调控 IL9 在 Th9 细胞中的表达，在小鼠哮喘模型中 IL25 能够增强 IL9 在 Th9 细胞中的表达，当阻断 IL25 时，IL9 在 Th9 中的分泌量就会降低^[27]。除此之外，IL6、IL21、IL-1 β 、IL10、IL12、IFN- β 、IFN- α ^[28]以及诱导 Th9 分化的转录因子 PU.1^[29]和转录因子 IRF4^[30]都会对 Th9 细胞分泌 IL9 产生影响。来自 Th9 的 IL9 在超敏反应中还能够促进肥大细胞产生 IL13，IL13 又进而促进肺部粘液的分泌引起气道高反应性^[28]。

人源的未成熟的 Th17 细胞也能够分泌 IL9，但是该细胞成熟之后，分泌 IL9 的能力显著下降。并且在小鼠体内，IL23 能够抑制 IL9 的分泌^[31]。来自 Th17 的 IL9 通过自分泌的方式促进细胞的生长增殖。虽然 IL9 不能促进 Treg 细胞的生长和增殖，但是能够在体外增强 Foxp3⁺Treg 细胞对 CD4⁺效应 T 细胞的免疫抑制作用^[30]。基于该机制，IL9 在皮肤移植时，还可以抑制宿主对移植皮肤的进行性免疫应答反应^[32]。

IL9 大部分是由肥大细胞产生的，肥大细胞产生的 IL9 通过自分泌的方式使细胞表面的 IgE 产生交联，使肥大细胞脱颗粒释放组胺和 IL-1 β ，形成正反馈又进一步促进 IL9 的分泌，就是这样促进了肥大细胞的增殖和生长^[33]。此外，IgE 的交联还促进了肥大细胞 IL-5 和 IL-13 的分泌，进而促进肺部及肠道嗜酸性粒细胞的聚集以及粘液的分泌^[34]。前体肥大细胞的生长并不需要 IL9，只有在炎症反应时才需要 IL9 来促进肥大细胞的募集和增殖，在鼠中风和肠炎时，IL9 可以诱导肥大细胞产生 TGF- β ，作用于神经元细胞和肠上皮细胞，促进炎症的发生^[35]。另外，在介导肥大细胞进入病灶的过程中，来自于 NKT 细胞的 IL9 起到促进作用，在胃肠道过敏时，来自 Th9 细胞的 IL9 可以促进肥大细胞的增殖，并加大肠道的炎性浸润^[36]。

小鼠的 NKT 细胞也分泌 IL9，NKT 细胞分泌的 IL9 能够促进气道炎症的发

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.